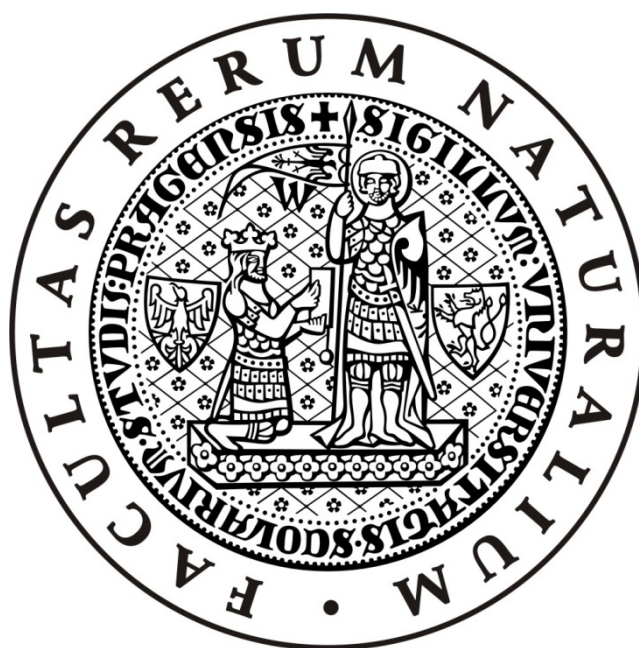


**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra parazitologie



## **Flebotomové jako hostitelé jedno a vícehostitelských trypanosomatid**

Sand flies as hosts of monoxenous and dioxenous  
trypanosomatids

Bakalářská práce

Oldřich Vondráček

Školitel: Doc. RNDr. Jan Votýpka, PhD.

2010

Na tomto místě bych velmi rád poděkoval svému školiteli Doc. RNDr. Janu Votýpkovi, PhD. za jeho cenné rady a nekonečnou trpělivost při sepisování této práce. Dále bych chtěl poděkovat mým rodičům za jejich podporu.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a výhradně za použití uvedené literatury.

V Praze dne 11. 8. 2010

Oldřich Vondráček

## Obsah

1 Abstrakt .....	3
2 Úvod .....	4
3 Flebotomové jako hostitelé a přenašeči patogenů.....	5
5 Trávicí trakt flebotomů .....	6
6 Trypanosomatida .....	7
7 Jednohostitelská trypanosomatida u flebotomů.....	9
8 Vícehostitelská trypanosomatida u flebotomů .....	10
8.1. Rod <i>Leishmania</i> .....	10
8.2. Rod <i>Endotrypanum</i> .....	14
8.3. Rod <i>Trypanosoma</i> .....	14
9 Závěr .....	23
10 Seznam použité literatury .....	24

## **1 Abstrakt**

Flebotomové (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) jsou krevsající dvoukřídlí, kteří jsou významnými přenašeči patogenů, mezi něž patří i někteří prvoci ze skupiny Kinetoplastida. Ve své práci se zabývám výskytem a způsobem vývoje jednohostitelských a vícehostitelských trypanosomatid ve flebotomech s důrazem na trypanosomatida nenáležící do rodu *Leishmania*.

**Klíčová slova:** Phlebotomus, Trypanosomatida, Trypanosoma, přenos

### **Abstract:**

Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) are blood-sucking diptera and important vectors of various pathogens including protozoas from the order Kinetoplastida. In my bachelor work I am dealing with distribution and development of monoxenous and heteroxenous trypanosomatids in sandflies, with special attention to non-leishmania trypanosomatids.

**Key words:** Phlebotomus, Trypanosomatida, Trypanosoma, transmission

## 2 Úvod

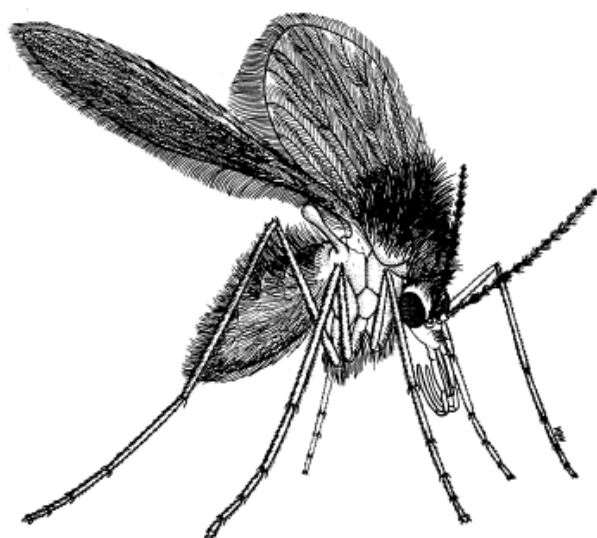
Řád Trypanosomatida představuje skupinu výhradně parazitických prvoků vyznačující se celou řadou zvláštností jako například kinetoplastovou DNA, trans-splicingem, editací RNA atd. Někteří zástupci tohoto řádu způsobují velmi závažná onemocnění člověka, zvířat a rostlin. Mezi nejdůležitější lidská onemocnění patří spavá nemoc (označovaná též jako africká trypanosomiáza), jejímž původcem je *Trypanosoma brucei*, která je přenášena mouchami tse-tse. Dále novosvětská Chagasova choroba, kterou způsobuje *T. cruzi*, přenášená plošticemi. Dalším důležitým rodem je *Leishmania* způsobující tzv. leishmaniózy, které oslabují a zabíjejí stovky tisíc lidí v tropických a subtropických oblastech. Mezi nejdůležitější nemoci zvířat patří například nagana, kterou způsobuje nejčastěji *T. congolense*, dále například smrtelné onemocnění dourina, vyskytující se u koní, jejímž původcem je *T. equiperdum*. Značné ekonomické ztráty důležitých zemědělských rostlin způsobuje rod *Phytomonas*. Tito parazité jsou však zástupci pouze tří rodů, z celkového počtu jedenácti doposud známých rodů čeledi Trypanosomatidae. Dvouhostitelské rody *Trypanosoma*, *Leishmania* a *Phytomonas* jsou vzhledem ke své důležitosti dlouho a intenzivně studovány, a jejich studie zastiňují ostatní, zejména jednohostitelská trypanosomatida, jejichž prozkoumání by mohlo být klíčem k pochopení fylogeneze celé skupiny, vzniku dvouhostitelských životních cyklů či k objasnění diverzity, hostitelské specifity a zeměpisného rozšíření trypanosomatid.

Trypanosomatida jsou přenášena celou řadou vektorů, mezi které patří mj. i flebotomové. Rody *Leishmania* a *Endotrypanum* jsou známy pouze jako rody přenášené flebotomy, zatímco zástupce rodu *Trypanosoma* lze nalézt jak u flebotomů, tak i u dalších dvoukřídlých, například u klošů, ovádů a glosín, dále u hmyzu jako například ploštic a blech či u dalších bezobratlých jako jsou pijavky a roztoči, avšak přenašečem může být i obratlovec (upír). Kromě dvouhostitelských rodů existují dokonce i záznamy o výskytu jednohostitelských trypanosomatid u flebotomů. Téma výskytu různých trypanosomatid u flebotomů nebylo prozatím dostatečně prozkoumáno a výzkum těchto přenašečů byl doposud spojován téměř výhradně s leishmaniemi. Přitom u flebotomů nacházíme nejširší možné spektrum přenášených trypanosomatid, a to rody *Endotrypanum*, *Leishmania*, *Trypanosoma* a některé jednohostitelské rody, zatímco u jiných dvoukřídlých tomu tak není. Flebotomové jsou v tomto ohledu unikátní, a proto je možné považovat flebotomy za

ideální skupiny pro studium. Zajímavou otázkou je možnost srovnání vývoje trypanosom a leishmanií ve flebotomech. V mnoha případech zůstává neobjasněn způsob, jakým jsou trypanosomy přenášeny z flebotomů na obratlovčí hostitele nebo například vliv trypanosom na své přenašeče.

### 3 Flebotomové jako hostitelé a přenašeči patogenů

Flebotomové (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) jsou drobný krevsající nematocerní hmyz (viz obr. 1), vyskytující se především v tropech a subtropích, do 50. stupně severní šířky a 40. stupně jižní šířky. Popsáno je více než 700 druhů. Nejdůležitějšími rody jsou *Phlebotomus* a *Sergentomyia* ve Starém světě a *Lutzomyia* v Novém světě. Vývoj flebotomů není, na rozdíl od komárů a muchniček, vázán na vodní prostředí, a proto jejich rozšíření zasahuje i do semiaridních a aridních oblastí. Larvální stádia flebotomů jsou terestrická a jejich vývoj probíhá obvykle v norách hlodavců v organickém materiálu, kde je rovněž zajištěna potřebná dostatečná vlhkost. Larvy jsou eucephalní, apodní a kuklí se zhruba po čtyřech týdnech. Dospělci jsou špatnými letci, aktivní jsou převážně v noci a nikdy se nevzdalují příliš daleko od svých líhnišť. Obě pohlaví se živí cukernými roztoky, samičky navíc sají krev. Flebotomové jsou endo- i exofágní. Některé druhy se páří před sáním, jiné během sání a u některých druhů dochází k páření až po sání. Nasátá krev je pak použita jako zdroj bílkovin pro tvorbu vajíček, avšak některé druhy nemusí nutně přijmout krev pro naklazení první snůšky (Lewis, 1971; Killick-Kendrick, 1999; Sádlová, 1999).



Obr. 1: Samička flebotoma (převzato z Killick-Kendrick, 1999)

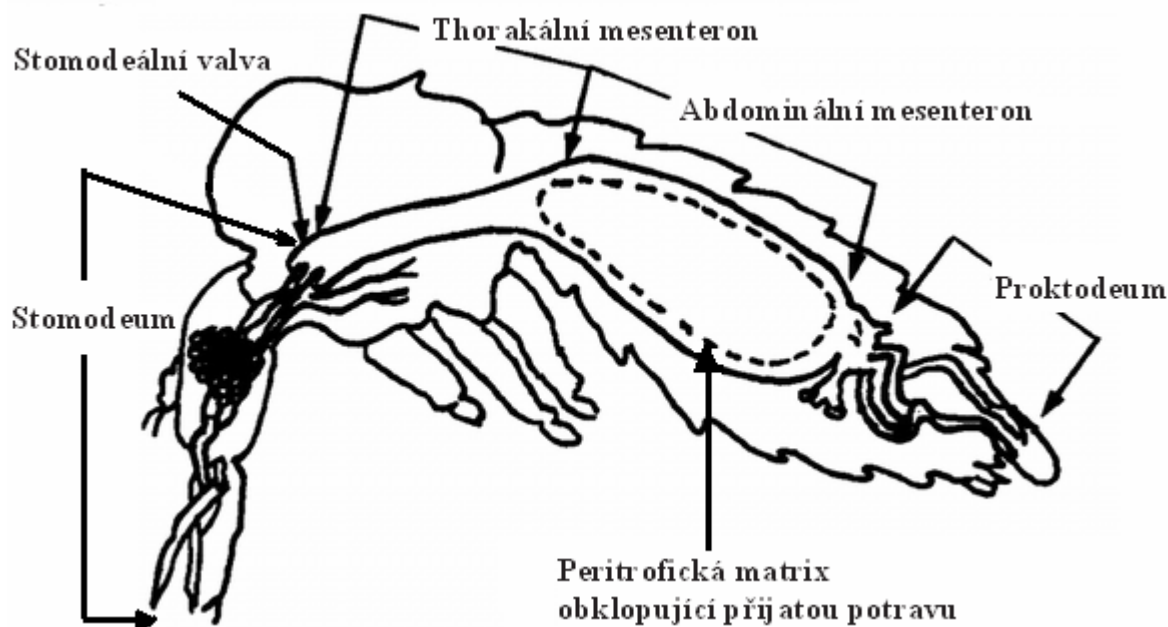
Flebotomové jsou sice významnými trapiči, ale zásadní význam mají zejména jako přenašeči lidských a zvířecích patogenů. Z virů přenášejí fleboviry způsobující tzv. horečku papatači či neapolskou horečku, z bakterií přenášejí *Bartonella bacilliformis* v chronické fázi působící tzv. Verruca peruviana a v akutní fázi tzv. Oroya fever. Existují i záznamy o gregarinách (rod *Psychodiella*) nejméně u dvaceti druhů flebotomů, z nichž některé mohou být pro své hostitele patogenní (Votýpka et al., 2009). Dále byly objeveny mycelia hub asociované s gonádami hmyzích hostitelů, a to nejméně u deseti druhů flebotomů (McConnell a Correa, 1964). McConnell a Correa (1964) rovněž zaznamenali u *Lu. vespertilionis* výskyt vajíček, larválních stádií i dospělců nematodů náležících pravděpodobně do rodu *Tylenchinema*. Z protozoí přenášejí flebotomové hlavně leishmanie (Kinetoplastea: Trypanosomatida: rod *Leishmania*), kvůli kterým jsou tak neblaze známí. Leishmaniózy dělíme do tří typů: kožní (zejména *Leishmania major*, *L. mexicana*, *L. tropica*), kožně-slizniční (např. *L. brasiliensis*) a viscerální (hlavně *L. donovani* a *Leishmania infantum*). Flebotomové však kromě leishmanií přenášejí i zástupce rodu *Endotrypanum*, *Trypanosoma*, a také jsou i hostiteli některých jednohostitelských trypanosomatid. V následujících kapitolách se budu věnovat podrobněji jednotlivým skupinám trypanosomatid a jejich vývoji ve flebotomích hostitelích.

## 5 Trávicí trakt flebotomů

V této práci zmiňuji zástupce trypanosomatid náležící do různých rodů, kteří se mezi sebou mohou lišit způsobem vývoje ve flebotomech, a to včetně lokalizace v různých částech trávicího traktu hmyzího hostitele. Proto zde uvádím alespoň stručný popis trávicí soustavy flebotoma.

Trávicí soustava je u flebotoma členěna na tři části – stomodeum, mesenteron a proktodeum (viz obr. 2). Stomodeum a proktodeum jsou ektodermálního původu a jejich buňky sekretují chitinovou kutikulu. Stomodeum zahrnuje sosák, ústní dutinu, hltan, jícn a jeho výběžek vole. Proktodeum začíná pylorem, kam ústí Malpighické trubice, dále se skládá z ilea, rektální ampule a končí rozšířeným rektum. Mesenteron je entodermálního původu a jeho stěna je pokrytá mikrovilli. V mesenteronu dochází k sekreci trávicích enzymů, trávení a absorpci vzniklých štěpů. Důležitou funkcí mesenteronu je tvorba peritrofické matrix, která se tvoří vždy jen po nasátí krve z buněk abdominální části mesenteronu, její tvorba je pravděpodobně indukována roztažením střeva a dokončena je během několika

hodin. Po ukončení trávení se opět rozpadá. Peritrofická matrix je složená z mukopolysacharidů, proteinů a cukrů. Je semipermeabilní, rozděluje mesenteron na endo- a ektoperitrofický prostor, chrání mikrovilli před mechanickým poškozením a má také antiparazitární a antibakteriální funkci.



Obr. 2: Trávicí trakt flebotoma (podle Guevara et al., 2001, upraveno)

## 6 Trypanosomatida

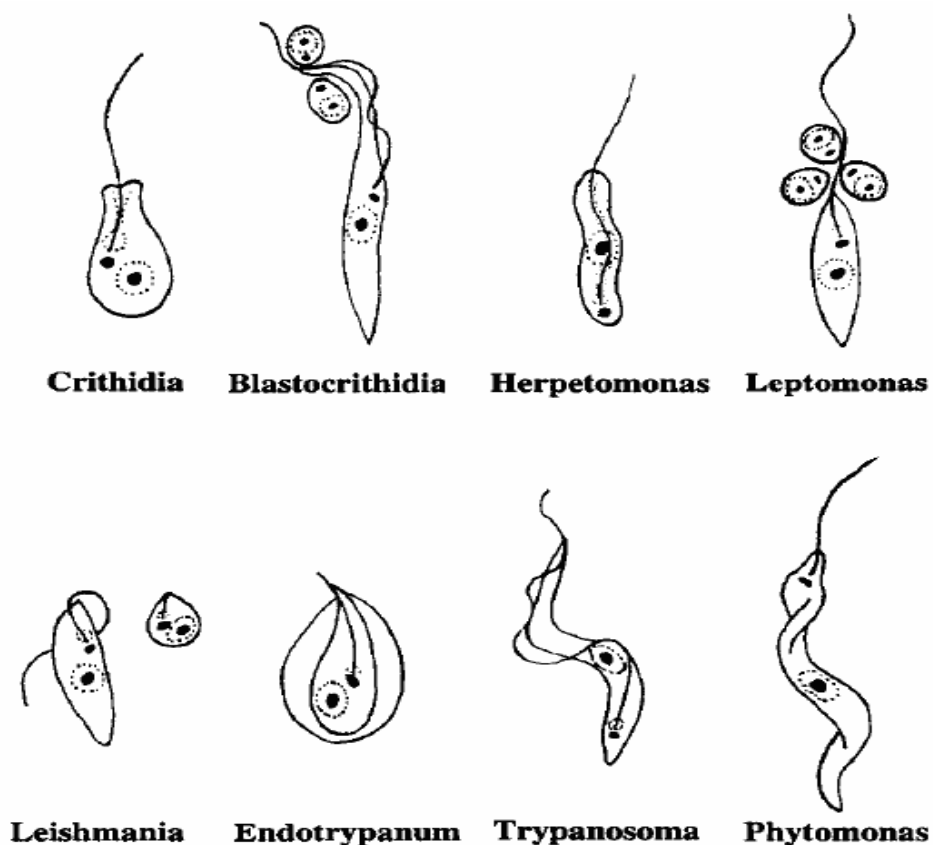
Řád Trypanosomatida patří společně s řádem Bodonida do třídy Kinetoplastea, vyznačující se unikátní organelou kinetoplastem, který představuje mitochondriální DNA. Další důležitou organelou těchto organismů jsou tzv. glykosomy, což jsou kulovité organely, odvozené od peroxisomů, které nemají vlastní genom. V glykosomech je lokalizována část glykolýzy, probíhá zde rovněž i  $\beta$ -oxidace mastných kyselin či syntéza některých lipidů. U těchto organismů byly poprvé popsány tzv. acidokalcisomy, což jsou organely s vysokým obsahem fosforu a vápníku, nutné pro osmoregulaci a udržování stálého pH. Trypanosomatida jsou dále charakteristická přítomností jednoho bičíku, který u některých forem vytváří tzv. undulující membránu. Důležitou součástí životního cyklu trypanosomatid je jejich schopnost tvořit různá morfologická stádia - amastigot, promastigot, choanomastigot, endomastigot, paramastigot, opisthomastigot, epimastigot a trypomastigot.



Hlavními stádii trypanosomatid jsou amastigot, promastigot, epimastigot a trypomastigot. Amastigotní stádium je zakulacené a má velmi krátký bičík. Promastigot je štíhlé stádium s kinetoplastem a bičíkem na předním konci těla. Epimastigot je štíhlé, protáhlé stádium, které má kinetoplast i bazální tělísko umístěné těsně u jádra a bičík tvoří krátkou undulující membránu. Trypomastigotní stádium je protáhlé s kinetoplastem i bazálním tělískem v zadní části těla a s bičíkem, který vytváří dlouhou undulující membránu.

Zástupci řádu Trypanosomatida jsou výhradně parazitičtí a dělí se do dvou skupin, a to na jedno- a dvouhostitelská trypanosomatida (viz obr. 3). Mezi jednohostitelské rody patří *Leptomonas*, *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Herpetomonas*, *Rhynchoidomonas*, *Wallaceina* a *Sergeia*. Dvouhostitelskými rody jsou *Leishmania*, *Endotrypanum*, *Trypanosoma* a *Phytomonas* (Podlipaev, 1990; Svobodová a kol., 2007).

Zástupci rodu *Leishmania* či *Endotrypanum* jsou přenášeni pouze flebotomy. Rod *Phytomonas* je přenášen fytofágními plošticemi. Naproti tomu pro rod *Trypanosoma* nalézáme široké spektrum přenašečů. Mezi přenašeče trypanosom patří například někteří zástupci ze skupiny Diptera, Hemiptera, Siphonaptera, ale také například některá klíšťata, pijavky a dokonce i upíři. Rod *Sergeia* byl zatím nalezen pouze u tiplíka. Další jednohostitelské rody *Wallaceina* a *Herpetomonas* lze nalézt u hmyzích zástupců z řádů Diptera a Hemiptera, rod *Crithidia* se navíc vyskytuje i u zástupců z řádů Hymenoptera a Trichoptera. Rod *Rhynchoidomonas* parazituje u řádů Diptera a Lepidoptera. Hostiteli rodu *Leptomonas* jsou Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Blattoidea, Lepidoptera, Siphonaptera, Anoplura a Orthoptera. Rod *Blastocrithidia* nalézáme u zástupců Diptera, Hemiptera, Siphonaptera, Hymenoptera a také u klíšťat.



Obr. 3: Schéma jedno- a vícehostitelských trypanosomatid (podle Vickerman, 1994, upraveno)

## 7 Jednohostitelská trypanosomatida u flebotomů

Adler a Theodor (1931) našli ve střevě *Sergentomyia minuta* crithidiální stádia, která však považovali za některá stádia *Trypanosoma platydictyli*. Wallace a Hertig (1968) zmiňují výskyt parazita rodu *Crithidia* v *Lutzomyia sanguinaria*. V *S. garnhami* byli objeveni paraziti, kteří by mohli být zástupci rodu *Blastocrithidia* (Lewis a Minter, 1960 cit. dle Wallace a Hertig, 1968; Hoogstraal a Dietlein (1964). Strangways-Dixon a Lainson (1962) našli v proktodeu *Ph. ovallesi* a *Ph. cruciatus* parazity, kteří by mohli být *Leptomonas* či *Herpetomonas*. Všechny výše citované práce se však výskytem jednohostitelských trypanosomatid u flebotomů věnují pouze okrajově a neposkytují žádné další informace o prevalenci, přesné lokalizaci či vývoji parazitů.

Při molekulárně-biologických studiích přirozené infekce *Leishmania donovani* u *Ph. argentipes* (Bhattarai et al., 2009), byly nalezeny sekvence DNA, které se lišily od sekvencí studované *L. donovani*. Jednalo se o sekvence ze vzorků pocházejících z oblastí Aurabani a Tanmuna v Nepálu. V této studii nebyli zjištěni parazité blíže

identifikování, avšak pravděpodobně se jednalo o *Sauroleishmania* spp., *Endotrypanum* spp. nebo o *Leptomonas* spp. Lokalizace infekce v těle *Ph. argentipes* nebyla zmíněna.

Noyes et al. (1997) zmiňují nález nepojmenovaného trypanosomatida pocházejícího z flebotoma z Guatemaly, označeného jako isolát G775, který byl na základě sekvencí pro SSU rRNA zařazen na bázi skupiny *Endotrypanum/Leishmania*.

Ve studii, kde je popsán jednohostitelský trypanosomatid z tiplíků *Sergeia podlipaevi* (Svobodová a kol., 2007), jsou zmíněny fylogenetické analýzy, na základě kterých je tento parazit dán do velmi blízkého vztahu s trypanosomatidy, označovanými jako kmen EVA, kteří byli vyizolováni z flebotoma *Lutzomyia evansi* ve Venezuele (bohužel kmen EVA se časem ztratil a není tedy dostupný pro další studium).

Na základě výše uvedených publikací lze usuzovat, že flebotomové mohou být hostiteli jednohostitelských trypanosomatid náležící do rodů *Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Crithidia*, *Blastocrithidia* či *Sergeia*.

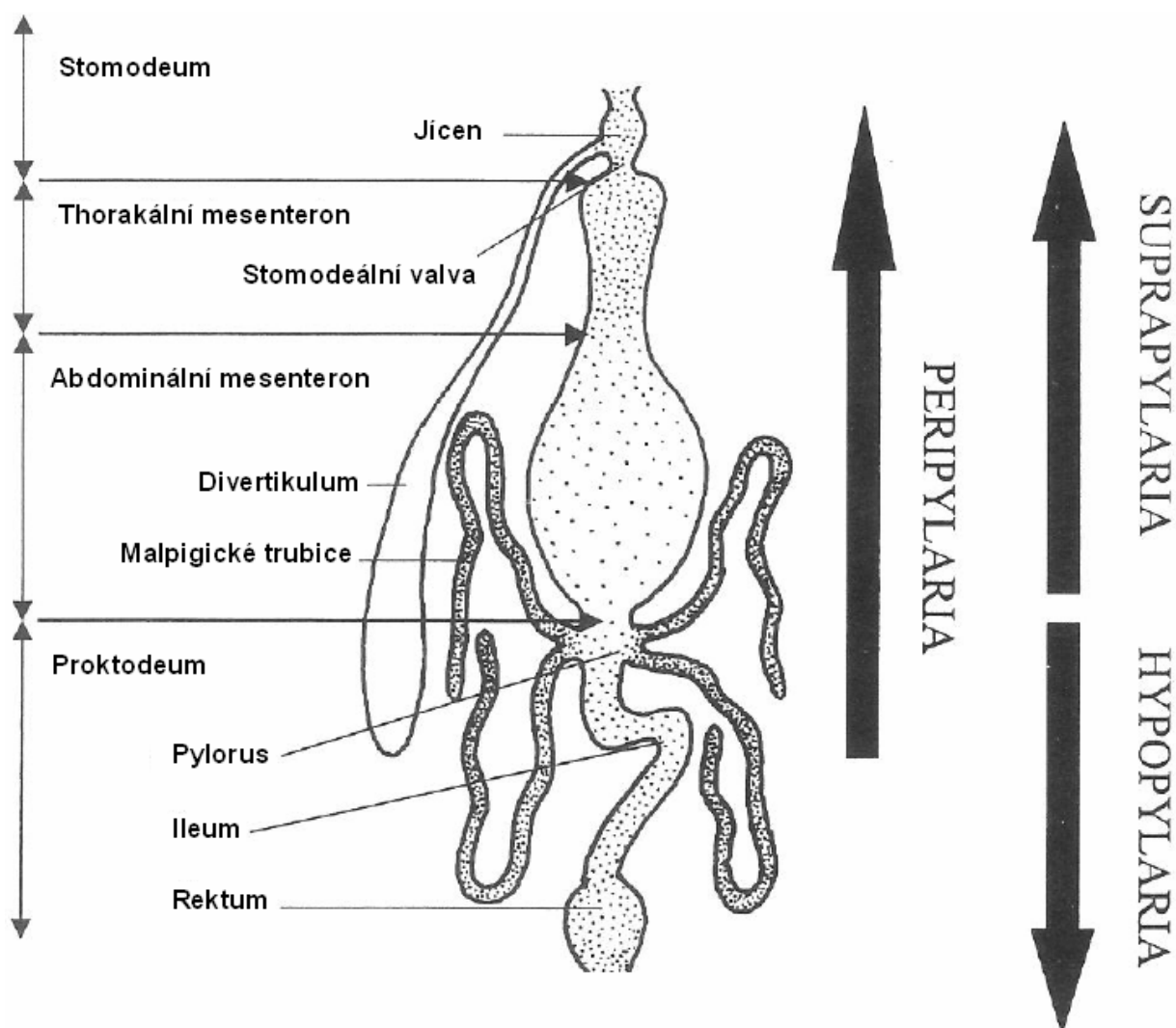
## **8 Vícehostitelská trypanosomatida u flebotomů**

### **8.1. Rod *Leishmania***

Rod *Leishmania* patří mezi dvouhostitelská (digenetická) trypanosomatida. Zástupci tohoto rodu se přenášejí pouze flebotomy v oblasti tropů a subtropů, avšak za přenašeče leishmanií je považováno pouze 10 % z více než 700 popsaných druhů flebotomů. Někteří zástupci rodu *Leishmania* způsobují široké spektrum symptomů, počínaje kožními vředy, přes kožně-slizniční lokalizaci, až po smrtí končící útrobní leishmaniózy. Jedná se tedy o medicínsky i veterinárně velmi významnou skupinu.

Rod *Leishmania* se dělí na tři podrody – *Leishmania*, *Viannia* a *Sauroleishmania*. Tyto podrody se liší v geografickém rozšíření, lokalizaci v přenašeči (viz obr. 4), a také spektrem definitivních hostitelů. Podrod *Leishmania* je rozšířen v Novém i ve Starém světě. Jeho zástupci mají tzv. suprapylární vývoj, to znamená, že se tyto parazité vyvíjejí ve stomodeu a mesenteronu. Definitivními hostiteli jsou savci, podobně jako u podrodu *Viannia*, který se vyskytuje pouze v Novém světě a má tzv. peripylární vývoj, kde se parazité vyvíjejí ve všech částech

trávicího traktu. Podrod *Sauroleishmania* se vyskytuje pouze ve Starém světě, kde parazituje převážně u plazů, jeho lokalizace v přenašeči je omezena na oblast proktodea a vykazuje tedy tzv. hypopylární vývoj (Sádlová, 1999).



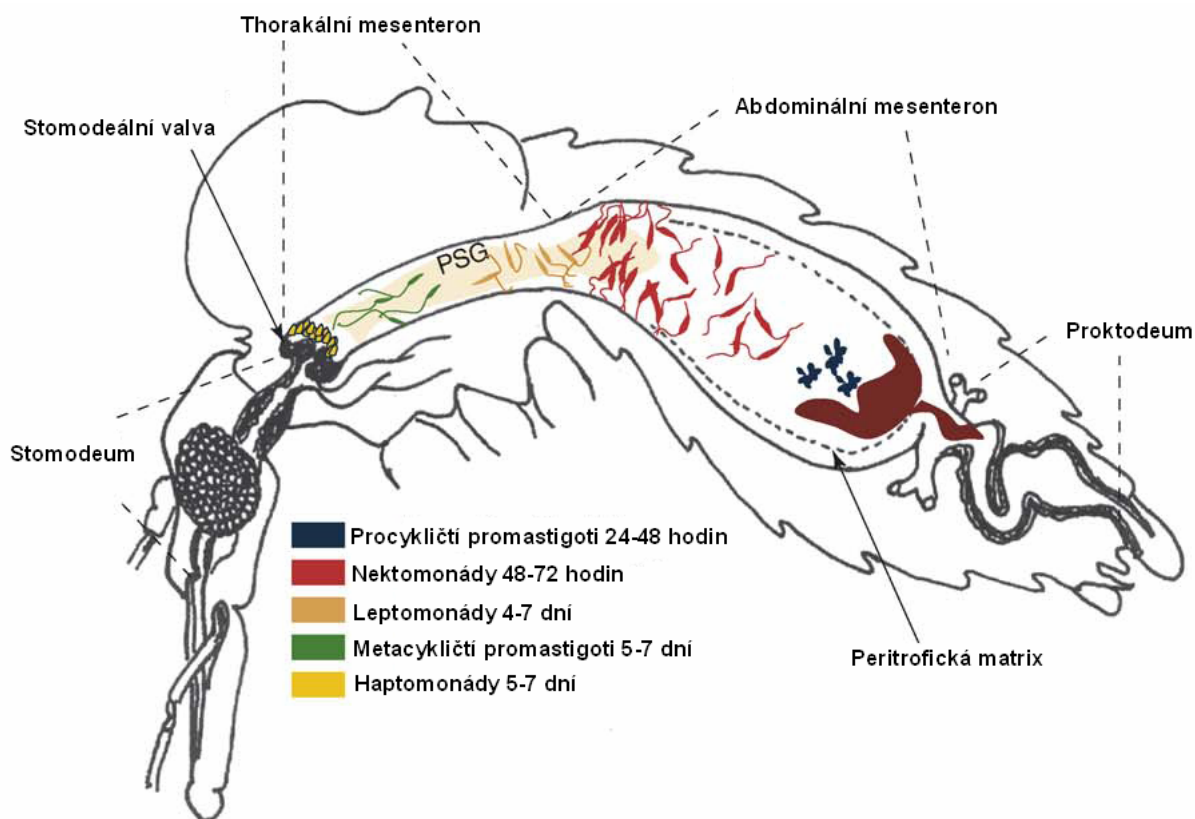
Obr. 4: Schéma tří vývojových typů u rodu *Leishmania* (podle Sádlová, 1999, upraveno)

Leishmanie se vyskytují ve dvou hlavních formách, a to jako intracelulární stádia v obratlovčím hostiteli nebo jako extracelulární formy v trávicím traktu flebotomů. Samičky flebotomů se nakazí leishmaniemi během sání krve na obratlovčím hostiteli, ve kterém se leishmanie vyskytují ve formě amastigotů uvnitř makrofágů. Flebotomové jsou thelmofágové, což znamená, že svým ústním ústrojím vytvoří relativně velké poškození tkáně a krev pak sají z tvořícího se hematomu, do něhož se dostávají i infikované makrofágy. Nasátá infikovaná krev je směřována do mesenteronu flebotoma, kde změna podmínek indukuje vývoj parazitů (Kamhawi,

2006). Leishmanie se pak postupně diferencují do několika stádií (viz obr. 5), které jsou odlišitelné morfologicky i svou funkcí. Amastigotní stádía se nejprve změní v procyklické promastigoty, což jsou stádía jen velmi málo pohyblivá, s krátkým bičíkem, které slouží k první namnožení uvnitř nasáté krve. Poté se replikace zpomalí a parazité se začnou transformovat na tzv. nektomonády, což jsou podlouhlé, velmi pohyblivé formy, které slouží k proniknutí z endoperitrofického prostoru pomocí chitinázy (Schlein et al., 1991; Shakarian a Dwyer, 2000 cit. dle Bates, 2007). Pak se přichytí k epitelu mesenteronu, prostřednictvím svého povrchového lipofosfoglykanu (LPG) ke galektinu, což je nezbytné pro přečkání defekace a nakonec migrují do přední části mesenteronu, kde se mění na leptomonády. Leptomonády jsou kratší formy než nektomonády a slouží k druhému namnožení v přenašeči, jejich další důležitou funkcí je sekrece promastigotního sekrečního gelu (PSG), který se uplatňuje při přenosu. Některé leptomonády se poté přichytí na stomodeální valvu a transformují se na tzv. haptomonády, což jsou nepohyblivé formy s velmi krátkým bičíkem, které vytvářejí zátku na stomodeální valvě a pravděpodobně ji zároveň poškozují pomocí chitinázy, čímž se zvyšuje pravděpodobnost přenosu (Volf et al., 2004). Další část leptomonád se diferencuje v metacyklické promastigoty, stádía která jsou infekční pro obratlovčí hostitele, mají prodloužený bičík a jsou vysoce pohyblivé.

U skupiny suprapylaria a peripylaria dochází k přenosu metacyklických forem na obratlovčího hostitele během sání, což je umožněno akumulací leishmanií v přední části mesenteronu flebotoma, kde parazité limitují tok nasávané krve a následně jsou prostřednictvím jejího zpětného toku transportováni do místa vpichu, a to díky porušení stomodeální valvy (Killick-Kendrick, 1977; Jefferies et al., 1986; Molyneux a Jefferies, 1986 cit. dle Volf et al., 2004). Infikované samičky flebotomů sají déle než neinfikované samičky a zároveň častěji střídají místa sání, čímž se zvyšuje šance přenosu, při kterém jsou vyvrhovány masy parazitů do dalších hostitelů (Schlein et al., 1992; Schlein, 1993 cit. dle Volf et al., 2004). O flebotomech je známo, že mohou prodělávat prediurezi (Sádlová a Volf, 1999), což je vylučování přebytných tekutin během sání na hostiteli. Nelze tedy vyloučit možný kontaminativní přenos leishmanií, avšak takto vyloučení parazité pravděpodobně nejsou infekční pro obratlovčího hostitele, protože infekční metacyklické formy nalézáme pouze v přední části mesenteronu.

U zástupců podrodu *Sauroleishmania* (náležícího do skupiny hypopylaria) lze předpokládat, že by mohli být přenášeni podobně jako *Trypanosoma cruzi*, a to při defekaci během sání na hostiteli. Nedostatkem tohoto předpokladu je fakt, že flebotomové narozdíl od triatominů obvykle defekují až několik dní po sání. Existuje však předpoklad, že zástupci podrodu *Sauroleishmania* jsou přenášeni pozřením infikovaného flebotoma (Wilson a Southgate, 1979 cit. dle Bates, 2007).



Obr. 5: Životní cyklus leishmanií v přenašeči (podle Kamhawi, 2006, upraveno)

## 8.2. Rod *Endotrypanum*

Rod *Endotrypanum* se vyskytuje ve Střední a Jižní Americe a jeho přenašeči jsou výhradně flebotomové rodu *Lutzomyia*. Například existuje výskyt zástupců rodu *Endotrypanum* v *Lu. shannoni*, *Lu. umbratilis* a *Lu. anduzei* (Rogers et al., 1988 cit. dle Franco a Grimaldi, 1999). Tento rod je unikátní mezi ostatními trypanosomatidy, protože jeho zástupci jsou intraerytrocytárními parazity (Shaw, 1964 cit. dle Williams a Coelho, 1978). *Endotrypanum* se vyskytuje jako epimastigot či trypomastigot uvnitř erytrocytu hostitelů, kterými jsou chudozobí savci, například lenochod rodu *Choleopus*. Hlavním obratlovčím hostitelem pro *E. shaudinni* je lenochod *Ch. hofmanni* (Christensen a Herrer, 1976 cit. dle Williams a Coelho, 1978). Ve flebotomovi se *Endotrypanum* vyskytuje ve formě promastigota (Shaw, 1992 cit. dle Franco a Grimaldi, 1999). Většina infekcí v trávicím traktu flebotoma se nachází v mesenteronu či proktodeu, a to s největší akumulací v oblasti pyloru, avšak paraziti byli nalezeni i v Malpighických trubicích (Franco et al., 1997). K přenosu parazitů na obratlovčí hostitele dochází během sání infikovaných samiček flebotomů. Shaw (1964) tvrdí, že se obratlovčí hostitel nakazí kontaminativně, zatímco Christensen a Herrer (1976) předpokládají, že se *E. shaudinni* přenáší spíše inokulací při sání, než kontaminativně, a to i přes fakt, že bičíkovci nikdy nebyli lokalizováni anteriorně od stomodeální valvy.

## 8.3. Rod *Trypanosoma*

Rod *Trypanosoma* patří také mezi dvouhostitelská trypanosomatida střídající dva typy hostitelů, a to obratlovčího a bezobratlého. Trypanosomy jsou přenášeny nejčastěji hmyzem, a to zejména dvoukřídłym a plošticemi. Nejznámějšími přenašeči lidských trypanosom jsou mouchy tse-tse (rodu *Glossina*) v glosínovém pásmu Afriky a ploštice rodu *Triatoma* v Jižní a Střední Americe. Dalšími, zejména zvířecími přenašeči trypanosom jsou ovádi, kloši, komáři a flebotomové. Důležitou roli v přenosu trypanosom ve vodním prostředí hrají pijavky přenášející trypanosomy ryb, žab, želv a mloků (Lom 1979; Telford 1995 cit. dle Ferreira et al., 2008). Dále je možný také mechanický přenos trypanosom při sání upírů nebo specifický přenos pohlavním stykem *T. equiperdum* u koní.

Podle způsobu přenosu lze trypanosomy rozdělit do čtyř skupin: salivární, mechanicky přenášené, sterkorární a trypanosomy přenášené pozřením vektora. U skupiny salivárních trypanosom je konečný vývoj v přenašeči omezen pouze

na přední část trávicího traktu resp. na kolonizaci slinných žláz. Trypanosomy jsou pak přenášeny společně se slinami jako metacyklickí trypomastigoti při sání krve na obratlovčím hostiteli, ve kterém se pak rozmnožují jako trypomastigoti. Do této skupiny patří trypanosomy komplexů *T. brucei*, *T. congolense* a *T. vivax*. Mechanický přenos trypanosom probíhá v sosáku a ústním ústrojí přenašeče, například *T. evansi* přenášená ovády. Vývoj sterkorárních trypanosom postupuje v přenašeči až do zadní části trávicího traktu, odkud jsou pak trypanosomy vylučovány společně s výkaly ve formě metacyklických trypomastigotů, ty se do obratlovčího hostitele dostávají kontaminací buďto v místě vpichu nebo kontaminací sliznic. V obratlovčím hostiteli se trypomastigotní stádia nemnoží, ale slouží k šíření infekce v těle hostitele a k nákaze dalšího přenašeče. Množícími se stádii v obratlovčím hostiteli jsou amastigoti či epimastigoti. Sem patří například *T. cruzi*, původce Chagasovy choroby. Přenos trypanosom pozřením vektora je známý například u žab, kde jsou infekčními stádii epimastigoti (Anderson a Ayala, 1968). Experimentálně byl proveden také úspěšný přenos *T. avium* pozřením vektora, muchničky druhu *Eusimulium latipes*, na ptačího hostitele (*Serinus canaria*). Infekční stádium v tomto případě představují trypomastigoti (Votýpka a Svobodová, 2003).

Role flebotomů jako přenašečů trypanosom byla studována spíše okrajově a naprostá většina studií se zaměřuje na flebotomy jako na přenašeče leishmanií. Přesto jsou flebotomové předpokládány přenašeči trypanosom plazů (Adler a Theodor, 1935; Anderson a Ayala, 1968; Sato et al., 2009; Viola et al., 2008<sup>1</sup>), žab (Anderson a Ayala, 1968), netopýrů (McConnell a Correa, 1964) a vačíc (Naiff et al., 1989). V této kapitole uvádím některé doložené záznamy o výskytu trypanosom ve flebotomech (viz tab. 1).

---

<sup>1</sup> jedná se pouze o experimentální infekce flebotomů trypanosomami



Tab. 1: Trypanosomy zaznamenané u flebotomů (upraveno a doplněno podle Williams a Coelho, 1978)

Parazit	Obratlovčí hostitel	Přenašeč	Lokalizace <sup>2</sup>	Země	Autoři
<i>T. phlebotomi</i>	<i>Hemidactylus frenatus</i>	<i>S. babushori</i>	N/A <sup>3</sup>	Indie	Short a Swaminath (1931) <sup>4</sup>
<i>T. platydactyli</i>	<i>Tarentola mauritanica</i>	<i>S. minuta</i>	S, M	Malta	Adler a Theodor (1931, 1935)
<i>T. bocagei</i>	<i>Bufo bufo</i>	<i>S. squamirostris</i>	M, H	Čína	Feng a Chung (1940)
<i>T. phyllotis</i>	<i>Phyllotis darwini</i>	<i>Lu. noguchii</i>	M	Peru	Herrer (1942)
<i>T. scelopori</i>	<i>Sceloporus occidentalis</i>	<i>Lu. vexator</i>	N/A <sup>3</sup>	USA (Kalifornie)	Ayala (1970)
<i>T. bufophlebotomi</i>	<i>Bufo boreas</i>	<i>Lu. vexator</i>	M, H	USA (Kalifornie)	Anderson a Ayala (1968); Ayala (1970)
<i>T. leonidasdeaneai</i>	<i>Saccoteryx billineata</i>	<i>Lu. Vespertilionis</i>	N/A	Panama	Christensen a Herrer (1975)
			N/A	Belize	Williams (1976)
			N/A	Kostarika	Zeledón a Rosabal (1969)
<i>T. gerrhonoti</i>	<i>Gerrhonotis multicarinatus</i>	<i>Lu. vexator</i>	N/A <sup>3</sup>	USA (Kalifornie)	Ayala a McKay (1971)
<i>T. thecadactyli</i>	<i>Thecadactylus rapicaudus</i>	<i>Lu. trinidadensis</i>	H	Panama	Christensen a Telford (1972)
<i>T. boueti</i>	<i>Mabuya striata</i>	<i>S. bedfordi</i>	H	Etiopie	Ashford et al. (1973b)
<i>T. freitasi</i>	<i>Didelphis albiventris</i> , <i>D. marsupialis</i>	<i>Psychodopygus clauserei</i>	N/A <sup>3</sup>	Amazonie	Naiff et al. (1989)
<i>T. grayi</i>	<i>Crocodilus niloticus</i>	<i>S. sp. a Ph. Sp.</i>	N/A <sup>3</sup>	Afrika	Taylor (1929); Minter-Goedbloed et al. (1993) <sup>5</sup>
<i>T. varani</i>	<i>Varanus niloticus</i>				
<i>T. sp.</i>	<i>Carollia perspicillata</i>	<i>Lu. vespertilionis</i>	M, H	Panama	McConnell a Correa (1964)
<i>T. sp.</i>	???	<i>Ph. kazeruni</i>	H	Pákistán	Kato et al. (2010)
<i>T. sp.</i>	???	<i>Ph. heishi</i>	N/A	Súdán	Hoogstraal a Dieitlein (1964)
<i>T. sp.</i>	???	<i>Ph. micropygus</i>	N/A <sup>3</sup>	Brasil	Sherlock a Pessoa (1966) <sup>6</sup>
		<i>S. schwetzi</i>			
		<i>S. clydei</i>			
<i>T. sp.</i>	???	<i>S. adleri</i>	N/A	Senegal	Desjeux a Waroquy (1981)
		<i>S. squamipleuricus</i>			
		<i>S. magna</i>			
<i>T. sp.</i>	???	<i>S. garhami</i>	H	Afrika	Lewis a Minter (1960)

<sup>1</sup> možná se jedná o rod *Blastocrithidia*

<sup>2</sup> lokalizace v trávicím traktu přenašeče (S = stomodeum, M = mesenteron, H = proktodeum a N/A = není uvedeno)

<sup>3</sup> sekundární zdroj neposkytuje informaci o lokalizaci

<sup>4</sup> cit. dle Podlipaev (1990)

<sup>5</sup> cit. dle Sato et al. (2009)

<sup>6</sup> cit. dle Wallace a Hertig (1968)

### ***Trypanosoma platydactyli***

Adler a Theodor (1931) zaznamenali výskyt *T. platydactyli* v gekonech zedních (*Tarentola mauretanica*) z Catanie (Španělsko), kde bylo z celkového počtu čtyřiceti devíti exemplářů sedmnáct nakažených. *T. platydactyli* byla rovněž nalezena na Maltě u šesti z devíti zkoumaných gekonů (Adler a Theodor, 1931). V experimentu, kde nechali Adler a Theodor sát čtyřicet tři samic *Sergentomyia minuta* (synonymum *Ph. parroti* Adler a Theodor, 1927) na devíti infikovaných gekonech, se u čtyřiceti vyvinula nákaza *T. platydactyli*. V dalším experimentu nechali nasát čtrnáct laboratorně odchovaných samic *Ph. papatasi* na infikovaném gekonu, z nichž se deset nakazilo. V obou experimentech byly infekce silné, mnoho bičíkovců bylo připojeno k rhabdriu ve střední části střeva. V jednom flebotomovi byly bičíkovci nalezeni současně v mesenteronu i ve stomodeu. Infekce však nikdy nesestoupili do proktodea. Na stejném gekonovi bylo poté provedeno sání tří dalších samic *Ph. parroti*, které se také nakazily, infekce byly rovněž velmi silné a opět se nákaza nerozšířila do proktodea. Adler a Theodor (1935) také našli jednu z odchycených samic *S. minuta*, pravděpodobně infikovanou stádií *T. platydactyli*.

Pro nakažení flebotoma zřejmě stačí i malé množství bičíkovců, protože se v krevním roztěru nakaženého gekona, použitého při experimentu, nenašly žádné trypanosomy. Infekce ve *Ph. papatasi* přetrvávala nejméně po dobu devíti dnů (tj. i po defekaci) a nebyla ovlivněna opakovaným sáním, takže by *T. platydactyli* mohla být přenášena při sání. *Ph. papatasi* však pravděpodobně není přenašečem, jelikož v přírodě na gekonech nesaje, zatímco *S. minuta* v přírodě na gekonech saje běžně. Adler a Theodor na základě tohoto experimentu předpokládají, že flebotomové jsou schopni přenášet *T. platydactyli* na gekony *Tarentola mauretanica*. V experimentech se několikrát přihodilo, že když nechali sát vždy jednoho flebotoma na gekonovi v dokonale uzavřené Erlenmeyerově baňce, flebotom po čase zmizel, a je tedy pravděpodobné, že byl sežrán. Přenos je tedy uskutečněn zřejmě kontaminativně při pozření infikovaného flebotoma, ale přenos sáním nebyl vyloučen.

### ***Trypanosoma bocagei* a *T. bufophlebotomi***

Tyto dvě trypanosomy byly zaznamenány u žab. Žáby jsou vystaveny jak vodním, tak i suchozemským ektoparazitům, jako jsou pijavky a členovci, kteří mohou sloužit jako přenašeči trypanosom. Infekce trypanosomami byly u žab často zaznamenávány jak ve Starém tak i v Novém světě. Zatímco vodní pijavky jsou obecně považovány za

nejdůležitější přenašeče trypanosom u žab trávících většinu života ve vodním prostředí, hmyz je důležitým přenašečem trypanosom u žab vyskytujících se mimo vodní prostředí. Pijavky přenáší trypanosomy jak na ranidy, tak bufonidy, zatímco flebotomové jsou přenašeči pouze trypanosom bufonidů. Bylo zjištěno, že *Phlebotomus squamirostris* přenáší *Trypanosoma bocagei* u *Bufo bufo* (Feng a Chung, 1940 cit. dle Ferreira et al., 2008), avšak toto zjištění nebylo experimentálně prokázáno (Desser, 2001).

Ve Spojených státech byla nalezena u odchycené samice *Lutzomyia vexator* trypanosoma *T. bufophlebotomi*, morfologicky podobná *T. bocagei*. Vývoj *T. bufophlebotomi* je navíc pozoruhodně podobný vývoji *T. boueti* v *Sergentomyia bedfordi* (Ashford et al., 1973b cit. dle Williams a Coelho, 1978). Trypanosomy vyskytující se u žab vykazují silnou hostitelskou specifitu, například *T. bufophlebotomi* je schopna infikovat pouze bufonidy, a všechny pokusy infikovat ranidy či hylidy byly neúspěšné (Ayala 1970, 1971 cit. dle Ferreira et al., 2008). *T. bufophlebotomi* se vyskytuje u ropuch a je infekční pro druh *Lutzomyia vexator*, který s ropuchami sdílí jejich místa pro denní odpočinek (Ayala, 1970 cit. dle Ferreira et al., 2008). Tito flebotomové však nesají pouze na ropuchách a je tedy možné předpokládat, že by mohli infekci přenést i na plazi či savčí hostitele (Bardsley a Harmsen, 1973).

Flebotomové se nakazí *T. bufophlebotomi* sáním na ropuchách a k nákaze ropuch může zřejmě dojít při sání, což bylo otestováno inokulací obsahu střeva infikovaného flebotoma do ropuchy. Současně může k nákaze dojít po pozření infikovaného flebotoma, což bylo prokázáno experimentálními infekcemi ropuch, které byly vystaveny flebotomům, kteří předtím sáli na infikovaných ropuchách. Nakažení flebotomové byli pozřeni ropuchami a xenodiagnóza následně potvrdila přítomnost trypanosom v krvi ropuch. Trypanosomy byly ve flebotomech pozorovány v mesenteronu, později se rozšířily i do proktodea a po úplné defekaci byly nalezeny silné infekce promastigotními stádii soustředěné převážně v proktodeu. Od šestého dne po sání přetrvávaly velmi silné infekce omezené na proktodeum (Anderson a Ayala, 1968). Trypanosomy se ve flebotomech vyvíjejí jako promastigoti, spheromastigoti a epimastigoti, trypomastigoti nebyli nalezeni. Infekční stádium představují epimastigoti (Ayala, 1971 cit. dle Ferreira et al., 2008). Vývoj *T. bufophlebotomi* a *T. bocagei* je v přenašeči podobný, ale na rozdíl od vývoje *T.*

*bufo-phlebotomi* se u *T. bocagei* nevyskytují kromě trypanomastigotních stádií ani epimastigotní stadia (Ayala, 1971 cit. dle Williams a Coelho, 1978).

### ***Trypanosoma phyllotis***

V Peru byla objevena *Trypanosoma phyllotis* přenášená druhem *Lutzomyia noguchii* z hlodavce rodu *Phyllotis* (Herrer, 1942 cit. dle McConnell a Correa, 1964). Herrerovi studie ukázaly, že samice *Lu. noguchii* žijící v norách hlodavců *Phyllotis*, bývají často silně nakažené trypanosomami a infekce byla nalezená asi u 80 % odchycených samiček z nor. Trypanosomy se vždy vyskytovaly v crithidiálním stádiu. Čtvrtý až pátý den po infekci byly pozorovány v mesenteronu, nikdy ale nebyly viděny v přední části trávicího ústrojí a navíc nepřečkaly ve flebotomech defekaci. Flebotomové tedy pravděpodobně nejsou jejich přenašeči.

### **Trypanosomy u *Sergentomyia garnhami***

Existuje záznam o výskytu bičíkovců v rektu samiček *S. garnhami*, kteří byli považováni za trypanosomy, ale mohlo se jednat též o zástupce rodu *Blastocrithidia* (Lewis a Minter, 1960 cit. dle Wallace a Hertig, 1968).

### **Trypanosomy u *Sergentomyia bedfordi***

*Sergentomyia bedfordi* je předpokládaným přenašečem *Trypanosoma boueti*. Tento druh flebotoma se vyskytuje především v blízkosti plazů *Mabuya* sp. a *Agama* sp. (Ashford, 1974)

### **Trypanosomy u *Phlebotomus heishi***

Hoogstraal a Dieitlein (1964) objevili trypanosomy u osmi *Ph. heishi* při studiu výskytu leishmanií u flebotomů sajících na lidech v oblasti Súdánu.

### **„Panamské trypanosomy“**

Studie v Panamě (McConnell a Correa, 1964) odhalily trypanosomy u druhu *Lutzomyia vespertilionis*, který je často spojován s netopýry, zejména s druhem *Carollia perspicillata*. Nalezená crithidiální i trypanosomální stadia byla přítomna v nasáté krvi flebotomů a v jednom případě bylo infikováno čtyřicet tři ze čtyřiceti čtyř zkoumaných samic. Celková prevalence u odchycených flebotomů byla stanovena na 67,9 % (747 z 1101). Nebyl nalezen žádný nakažený samec.

Při zkoumání netopýrů *Carollia*, chycených na stejné lokalitě jako flebotomové, byla většina netopýrů pozitivní na trypanosomy. Původně se předpokládalo, že trypanosomy nalezené v odchycených netopýrech jsou *T. vespertilionis*, které lze nalézt například ve vampýrech dlouhojazyčných (*Glossophaga soricina*), avšak trypanosomy nalezené v *Carollia* se liší morfologicky a jedná se tedy pravděpodobně o jiný druh.

Panamští bičíkovci byli nalezeni u flebotomů v mesenteronu nebo proktodeu, nikdy však nebyli viděni v přední části trávicího traktu. Infekce v proktodeu byly často velmi silné, zřejmě jako výsledek předešlého sání. Dominantní formou v proktodeu bylo crithidiové stádium. U pokročilejších infekcí byl lumen proktodea zcela vyplněn vysoce pohyblivými, malými trypomastigotními formami.

Předpokládá se, že pokud je *Lu. vespertilionis* zapojen do přenosu trypanosom, tak u netopýrů dochází k přenosu kontaminativně, kdy při sání na hostiteli flebotom vylučuje obsah proktodea, a tímto způsobem se dostávají trypanosomy na pokožku (sliznice) hostitele. Případně by mohlo docházet k přenosu pozřením vektora.

Při odchycích byl často nalézán ještě jeden druh flebotoma, a to *Lu. trinidadensis*, jehož samičky byly rovněž infikovány trypanosomami, ale pouze v 3,3 %. Tyto trypanosomy většinou pocházeli z plazů, kteří slouží *Lu. trinidadensis* jako zdroj krve, i když v jednom případě se u tohoto flebotoma našla rovněž krev pocházející ze savce. Trypanosoma pocházející z gekona *Thecadactylus rapicaudus* z Panamy byla popsána jako *T. thecadactyli* a za jejího přirozeného přenašeče je považován druh *Lu. trinidadensis* (Christensen a Telford, 1972).

### ***Trypanosoma leonidasdeanei* a *T. thecadactyli***

V roce 1964 byli v samičce flebotoma *Lutzomyia beltrani* odchycené ve vápencové jeskyni v Cayo District v Belize, nalezeni trypanosomatidi, kteří však nepatřili do rodu *Leishmania* (Williams, 1976). Po této události se výrazně zvedl zájem o flebotomy, sídlící v jeskynních v Belize, a tak bylo prozkoumáno pět jeskyň a z nich odchyceno několik druhů flebotomů, bičíkovci však byli nalezeni pouze u druhů *Lu. beltrani* a *Lu. trinidadensis*. Bičíkovci vyskytující se u *Lu. beltrani* se však morfologicky lišili od těch v *Lu. trinidadensis*. Na základě pozorování bylo stanoveno, že se bičíkovci množí hlavně v proktodeu *Lu. beltrani*, a to převážně u starších samiček s již vyvinutými

vaječníky, také absence bičíkovců u samců *Lu. beltrani* potvrzuje, že se samičky nakazily bičíkovci během sání krve. McConnell a Correa (1964) našli bičíkovce u *Lu. vespertilionis*, které odchytili v dutinách stromů v Panamě. Infekce u *Lu. vespertilionis* byly spojeny s nepojmenovanou trypanosomou, která byla nalezena také v krvi netopýrů, obývajících duté stromy společně s *Lu. vespertilionis*. V Belize byly v krvi odchycených netopýrů nalezeny (*Carollia* sp., *Glossophaga soricina* a *Artibeus lituratus*) malé počty velmi velkých trypanosom. Bičíkovce nalezené v krvi nebylo možné konkrétně identifikovat, ale s největší pravděpodobností patřily k podrodu *Megatrypanum*. Roku 1965 byl popsán jeden druh *Megatrypanum* z netopýrů Nového světa, jednalo se o *T. pessoai*, který byl popsán u *Desmodus rotundus*, nalezeného ve státě Sao Paulo v Brazílii (Deane a Sugay, 1963 cit. dle Williams, 1976). Ale při zkoumání trypanosom z infikované *Carollia subrufa* se usoudilo, že *Megatrypanum* z hmyzožravého netopýra v Belize nemůže být *T. pessoai*. Teprve v roce 1969 byla popsána *T. leonidasdeanei* z netopýra *Saccopteryx billineata*, nalezeného v Kostarice (Zeledón a Rosabal, 1969 cit. dle Williams, 1976). Trypanosomy nalezené v krvi infikovaného *C. subrufa* z Belize a bičíkovci nalezení v samičkách *Lu. beltrani*, pocházejících ze stejných jeskyní, souhlasili s ilustracemi od Zeledón a Rosabal (1969) a lze tedy uvažovat o tom, že se jednalo o *T. leonidasdeanei*.

Infekce bičíkovci byly zaznamenávány u *Lu. trinidadensis* i na jiných lokalitách v Belize. Intenzity infekcí u *Lu. trinidadensis* byly obvykle nízké. U dvou ze tří samiček flebotomů z jeskyně San Antonio byli bičíkovci lokalizováni v proktodeu. U obou samiček byli infekce silné. Třetí samička měla středně těžkou infekci omezenou pouze na rektální ampuli. Rektální ampule je zřejmě nejvhodnějším místem pro množení bičíkovců v *Lu. trinidadensis*. Bičíkovci nalezení v *Lu. trinidadensis* by mohli být *T. thecadactyli*. Obratlovčím hostitelem by měl být pravděpodobně gekon, ale savčího hostitele nelze zcela vyloučit, jelikož McConnell a Correa (1964) zaznamenali savčí krev v *Lu. trinidadensis* chycených v Panamě, a také byly objeveny bezjaderné erytrocyty v některých *Lu. trinidadensis* z Belize.

Úroveň parazitace netopýrů *T. leonidasdeanei* je obvykle velmi nízká a je tedy nepravděpodobné, že by *T. leonidasdeanei* vyvolávala u netopýrů patologický stav. Naproti tomu se *T. leonidasdeanei* množí velice rychle ve hmyzím hostiteli. Vzhledem k nízké úrovni parazitace *T. leonidasdeanei* u netopýrů, musí pravděpodobně dojít

k téměř úplnému nasátí *Lu. beltrani*, aby se zvýšila šance nakažení. Pokud se však *Lu. beltrani* těmito bičíkovci nakazí, tak infekce přetrvá i po defekaci, čímž se liší například od *Lu. beltrani* infikované *T. leonidasdeanei* nebo od *Lu. noguchii* infikované *T. phyllotis*. Bičíkovci *T. leonidasdeanei* u *Lu. beltrani* zcela ucpou střevo, a také u těchto *Lu. beltrani* pak dochází k rychlejšímu trávení krve, než u neinfikovaných samiček, což vede k narušení gonotrophického cyklu, jelikož parazité odebírají *Lu. beltrani* metabolity potřebné pro vývoj vajíček. Tato trypanosoma zřejmě patří do skupiny sterkorárních trypanosom. Předpokládá se, že *Lu. beltrani* buďto vylučuje v době sání trypanosomy společně s výkaly do okolí místa vpichu a na sliznice nebo dochází k přenosu na obratlovčího hostitele pozřením infikovaného flebotoma.

### **„Senegalské trypanosomy“**

Pitvy samiček flebotomů, odchycených v několika oblastech Senegalu, odhalily výskyt trypanosom neznámého druhu ve formě epimastigotů u 68 vzorků, které patřily k pěti druhům rodu *Sergentomyia*, a to *S. schwetzi*, *S. clydei*, *S. adleri*, *S. magna* a *S. squamipleuris* (Desjeux a Waroquy, 1981).

### ***Trypanosoma freitasi***

Tato trypanosoma patří mezi sterkorární trypanosomy a lze ji nalézt v krvi vačic *Didelphis albiventris* či *D. marsupialis*. Za přenašeče této trypanosomy je považován *Psychodopygus clauserei*, ve kterém byla infekce nalezena v oblasti mesenteronu a proktodea (Naiff et al., 1989).

### **Trypanosomy u *Ph. kazeruni***

Kato et al. (2010) odchytili během studia leishmanióz na území Pakistánu jednu samičku *Ph. kazeruni* obsahující bičíkovce v proktodeu, kteří, jak ukázala sekvenční analýza genu pro cytochrom b, SSU rRNA a gGAPDH, jsou pravděpodobně trypanosomami obojživelníků nebo plazů. Autoři však nezmiňují, zda byla samička *Ph. kazeruni* již po defekaci. Fylogenetické studie ukázaly, že se pravděpodobně jedná o doposud nepopsaný druh trypanosomy, která je nejvíce příbuzná žabím trypanosomám z Amazonie (Ferreira et al., 2008), avšak chycený *Ph. kazeruni* pochází z pouštní oblasti, kde nebyl pozorován žádný obojživelník, naopak se zde vyskytuje mnoho druhů gekonů. Tato studie jako první odhalila přirozený výskyt

trypanosomy ve flebotomovi na území Asie, protože doposud byly trypanosomy nalézány ve flebotomech pouze na Africkém a Americkém kontinentu.

## 9 Závěr

Flebotomové jsou významnými přenašeči celé řady patogenů, z nichž největší význam mají prvoci rodu *Leishmania*. Přenos leishmanií na obratlovčího hostitele je možný několika způsoby, a to jednak regurgitací parazitů do místa vpichu při sání, pozřením infikovaného vektora, případně kontaminací sliznic, oděrek či místa vpichu prostřednictvím prediureze. Kromě leishmanií jsou flebotomové zároveň jedinými přenašeči prvoků rodu *Endotrypanum*. Mimo rody *Leishmania* a *Endotrypanum*, které jsou přenášeny výhradně flebotomy, lze u flebotomů nalézt i další dvouhostitelská trypanosomatida, a to prvoky rodu *Trypanosoma*. Flebotomové se nakazí během sání na hostiteli. A poté dochází k vývoji trypanosom uvnitř jejich trávicího traktu. Jednotlivé záznamy výskytu trypanosom u flebotomů ukazují, že neexistuje jednotný způsob jejich vývoje. K přenosu na obratlovčího hostitele dochází opět několika způsoby, a to jednak pozřením vektora, inokulací při sání na hostiteli či kontaminací v místě vpichu, prostřednictvím oděrek a sliznic hostitele. Jednotlivé způsoby přenosu u flebotomů však byly u jednotlivých trypanosom potvrzeny jen výjimečně, a je tedy nutný jejich další výzkum. Mimo záznamy dvouhostitelských rodů u flebotomů existují také záznamy o výskytu jednohostitelských trypanosomatid ve flebotomech, podle kterých lze pokládat tento drobný nematocerní hmyz i za možného hostitele rodů *Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Crithidia*, *Blastocrithidia* či *Sergeia*.

Během psaní této práce jsem dospěl k závěru, že vyhledat dostatečné množství kompletních informací, které by se mohly týkat mého tématu, je problém. Informace, které jsem získal o trypanosomatidech nalezených ve flebotomech, kteří nepatří do rodu *Leishmania* (dále už jen trypanosomatida), byly ve většině případů hodně obecné a někdy i málo přesvědčivé, například: „U *Ph. argentipes* našli parazity, kteří nebyli blíže identifikováni, avšak pravděpodobně se jednalo o *Sauroleishmania* spp., *Endotrypanum* spp. nebo o *Leptomonas* spp. (Bhattarai et al., 2009)“. Značná část informací, které se týkají zvoleného tématu, je uvedena pouze jako zmínky ve studiích týkajících se jiné problematiky a navíc se autoři těchto studií zmíněným trypanosomatidům již obvykle dále nevěnují natolik, kolik by si zasloužila. A jen několik autorů poskytuje informace i o jejich lokalizaci ve flebotomech, jako



například studie o *T. platydactyli* (Adler a Theodor, 1931) nebo studie provedené na *T. leonidasdeanei* (Williams, 1976). Navíc většina důležitých článků je staršího data a používané metody jsou dnes již překonány. U většiny studií chybí návaznost na předchozí znalosti a citování předešlých článků je spíše výjimkou, jako například Wallace a Hertig (1968).

Ve svém dalším výzkumu bych se chtěl zaměřit detailněji na problematiku vývoje trypanosomatid nenáležících do rodu *Leishmania* a soustředit se především na trypanosomy. A to s důrazem na způsob jejich vývoje ve flebotomech, na specifickou lokalizaci v těle přenašeče a také na způsob, jak dochází k přenosu infekce z flebotomů na obratlovčí hostitele, který je doposud popsán velmi nedostatečně. Všechny tyto otázky si zaslouží být zodpovězeny a mohly by být potenciálně užitečné i ve studiích týkajících se vztahu leishmanií s flebotomy, jelikož se zástupci rodů *Leishmania* a *Trypanosoma* mohou vyskytovat současně ve stejném přenašeči. Bylo by tedy jistě zajímavé porovnat problematiku vztahu *Trypanosoma-Phlebotomus* se vztahem *Leishmania-Phlebotomus*, který je na našem pracovišti dlouhodobě studován. Proto ve své bakalářské práci shrnuji dosavadní poznatky o výskytu a způsobu vývoje trypanosomatid ve flebotomech, a to především zástupců rodu *Trypanosoma*.

Pro účely mé diplomové práce máme k dispozici pět isolátů ze *Sergentomyia minuta* a jeden isolát z *Phlebotomus kazeruni*. Na základě sekvencí genu pro malou ribozomální podjednotku jsme zjistili, že se u všech těchto isolátů jedná o trypanosomy, a to pravděpodobně o trypanosomy plazí.

## 10 Seznam použité literatury

**Adler, S. and Theodor, O. 1931.** Investigations on mediterranean Kala Azar. IV.-infection of sandflies with *Leishmania infantum*. Natural parasites of wild sandflies in Catania. Observations on *Trypanosoma ptyodactyli* catouillard. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, 108: 481-493.

**Adler, S. and Theodor, O. 1935.** Investigations on mediterranean Kala Azar. X.--A Note on *Trypanosoma platydactyli* and *Leishmania tarentolae*. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, 116: 543-544.

- Anderson, J. R. and Ayala, S. C. 1968.** Trypanosome transmitted by *Phlebotomus*: first report from the Americas. *Science* 161: 1023-1025.
- Ashford, R. W. 1974.** Sandflies (Diptera: Phlebotomidae) from Ethiopia: taxonomic and biological notes. *Journal of Medical Entomology* 11: 605-616.
- Bardsley, J. E. and Harmsen, R. 1973.** The trypanosomes of Anura. *Advances in Parasitology* 11: 1-73.
- Bates, P. A. 2007.** Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology* 37: 1097-1106.
- Bhattarai, N. R., Das, M. L., Rijal, S., Auwera, G. v. d., Picado, A. Khanal, B., Roy, L., Speybroecky, N., Berkvens, D., Davies, C. R., Coosemans, M., Boelaert, M., Dujardin, J-C. 2009.** Natural infection of *Phlebotomus argentipes* with *Leishmania* and other trypanosomatids in a visceral leishmaniasis endemic region of Nepal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 103: 1087-1092.
- Christensen, H. A. and Telford, S. R. Jr. 1972.** *Trypanosoma thecadactyli* sp. n. from forest geckoes in Panama, and its development in the sand fly *Lutzomyia trinidadensis* (Newstead) (Diptera. Psychodidae). *Journal of Protozoology*. 19: 403-406.
- Desjeux, P. and Waroquy, L. 1981.** Etude entomologique de 3000 phlebotomes (Diptera: Psychodidae) du Senegal. Infestation spontanee par Trypanosomatidae. *Afrique Medicale* 20: 347-349.
- Desser, S. S. 2001.** The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. *Journal of Parasitology* 87: 152-160.
- Ferreira, R. C., Souza, A. A. D., Freitas, R. A., Campaner, M., Takata, C. S., Barrett, T. V., Shaw, J. J. and Teixeira, M. M. 2008.** A phylogenetic lineage of closely related trypanosomes (Trypanosomatidae, Kinetoplastida) of anurans and sand flies (Psychodidae, Diptera) sharing the same ecotopes in Brazilian Amazonia. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 55: 427-435.

- Franco, A. M. R. and Grimaldi, G. 1999.** Characterization of *Endotrypanum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), a unique parasite infecting the neotropical tree sloths (Edentata). *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 94: 261-268.
- Guevara, P., Pinto-Santini, D., Rojas, A., Crisante, G., Añez, N. and Ramirez, J. L. 2001.** Green fluorescent protein-tagged *Leishmania* in phlebotomine sand flies. *Journal of Medical Entomology* 38: 39-43.
- Hoogstraal, H. and Dietlein, D. R. 1964.** Leishmaniasis in the Sudan Republic: recent results. *Bulletin of the World Health Organization* 31: 137-143.
- Kamhawi, S. 2006.** Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?. *Trends in Parasitology* 22: 439-445.
- Kato, H., Uezato, H., Sato, H., Bhutto, A. M., Soomro, F. R., Baloch, J. H., Iwata, H. and Hashiguchi, Y. 2010.** Natural infection of the sand fly *Phlebotomus kazeruni* by *Trypanosoma* species in Pakistan. *Parasites and Vectors* 3: 10.
- Killick-Kendrick, R. 1999.** The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology* 17: 279-289.
- Lewis, D. J. 1971.** Phlebotomid sandflies. *Bulletin of the World Health Organization* 44: 535-551
- McConnell, E. and Correa, M. 1964.** Trypanosomes and other microorganisms from Panamanian *Phlebotomus* sandflies. *Journal of Parasitology* 50: 523-528.
- Naiff, R. D., Barrett, T. V. and Freitas, R. A. 1989.** Isolation of *Typanosoma freitasi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from *Psychodopygus clautrei* (Diptera: Psychodidae). *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 84: 273-275.
- Noyes, H. A., Arana, B. A., Chance, M. L. and Maingon, R. 1997.** The *Leishmania hertigi* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) complex and the lizard *Leishmania*: their classification and evidence for a neotropical origin of the *Leishmania-Endotrypanum* clade. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 44: 511-517.
- Podlipaev, S. A. 1990.** Catalogue of world fauna of Trypanosomatidae (Protozoa).

- Proceedings of the Zoological Institute Leningrad 144: 1-174.
- Sádlová, J. 1999.** The life history of *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Acta Societatis Zoologicae Bohemicae 63: 331-366.
- Sádlová, J. and Volf, P. 1999.** Occurrence of *Leishmania major* in sandfly urine. Parasitology 118: 455-460.
- Sato, H., Takano, A., Kawabata, H., Une, Y., Watanabe, H. and Mukhtar, M. M. 2009.** *Trypanosoma* cf. *varani* in an imported ball python (*Python reginus*) from Ghana. Journal of Parasitology 95: 1029-1033.
- Strangways-Dixon, J. and Lainson, R. 1962.** Dermal leishmaniasis in British Honduras: transmission of *L. brasiliensis* by *Phlebotomus* species. British Medical Journal 1: 297-299.
- Svobodová, M., Zídková, L., Čepička, I., Oborník, M., Lukeš, J. and Votýpka, J. 2007.** *Sergeia podlipaevi* gen. nov., sp. nov. (Trypanosomatidae, Kinetoplastida), a parasite of biting midges (Ceratopogonidae, Diptera). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57: 423-432.
- Vickerman, K. 1994.** The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. International Journal for Parasitology 24: 1317-1331.
- Viola, L. B., Campaner, M., Takata, C. S. A., Ferreira, R. C., Rodrigues, A. C., Freitas, R. A., Duarte, R. M., Grego, K. F., Barrett, T. V., Camargo, E. P. and Teixeira, M. M. G. 2008.** Phylogeny of snake trypanosomes inferred by SSU rDNA sequences, their possible transmission by phlebotomines, and taxonomic appraisal by molecular, cross-infection and morphological analysis. Parasitology 135: 595-605.
- Volf, P., Hajmová, M., Sádlová, J. and Votýpka, J. 2004.** Blocked stomodeal valve of the insect vector: similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models. International Journal for Parasitology 34: 1221-1227.
- Votýpka, J., Lantová, L., Ghosh, K., Braig, H. R. and Volf, P. 2009.** Molecular characterization of gregarines from sand flies (Diptera: Psychodidae) and

description of *Psychodiella* n. g. (Apicomplexa: Gregarinida). Journal of Eukaryotic Microbiology 56: 583-588.

**Votýpka, J. and Svobodová, M. 2003.** *Trypanosoma avium*: experimental transmission from black flies to canaries. Parasitology Research 92: 147-151.

**Wallace, F. G. and Hertig, M. 1968.** Ultrastructural comparison of promastigote flagellates (Leptomonads) of wild-caught Panamanian *Phlebotomus*. Journal of Parasitology 54: 606-612.

**Williams, P. 1976.** Flagellate infections in cave-dwelling sandflies (Diptera, Psychodidae) in Belize, Central America. Bulletin of Entomological Research 65: 615-629.

**Williams, P. and Coelho, M. d. V. 1978.** Taxonomy and transmission of *Leishmania*. Advances in Parasitology 16: 1-42.

#### **sekundární literatura:**

**Ayala, S. C. 1970.** Two new trypanosomes from California toads and lizards. Journal of Protozoology 17: 370-373.

**Ayala, S. C. 1971.** Trypanosomes in wild California sandflies, and extrinsic stages of *Trypanosoma bufophlebotomi*. Journal of Protozoology 18: 433-436.

**Ayala, S. C. and McKay, J. G. 1971.** *Trypanosoma gerrhonoti* n. sp., and extrinsic development of lizard trypanosomes in California sandflies. Journal of Protozoology 18: 430-433.

**Ashford, R. W., Bray, M. A. and Foster, W. A. 1973b.** Observations on *Trypanosoma boueti* (Protozoa) parasitic in the skink *Mabuya striata* (Reptilia) and the sandfly *Sergentomyia bedfordi* in Ethiopia. Journal of Zoology 171: 285-292.

**Christensen, H. A. and Herrero, A. 1976.** Neotropical sand flies (Diptera: Psychodidae), invertebrate hosts of *Endotrypanum schaudinni* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Journal of Medical Entomology 13: 299-303.

- Deane, L. M. and Sugay, W. 1963.** *Trypanosoma pessoai* n. sp. in vampire bats *Desmodus rotundus rotundus* from the State of Sao Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 5: 165-169.
- Feng, L. C. a Chung, H. L. 1940.** *Phlebotomus squamirostris*. (Newstead), transmitter of *Trypanosoma bocagei* França in the toad, *Bufo bufo gargarizans* (Cantor). *Chinese Medical Journal* 3: 198-211.
- Herrer, A. 1942.** *Trypanosoma phyllotis* n. sp. e infecciones asociadas en una titiru, el *Phlebotomus noguchii*. *Revista de Medicina Experimental* 1: 40-55.
- Jefferies, D., Livesey, J. L., Molyneux, D. H. 1986.** Fluid mechanics of bloodmeal uptake by *Leishmania* infected sandflies. *Acta Tropica* 43: 43-53.
- Killick-Kendrick, R., Leaney, A. J., Ready, P. D., Molyneux, D. H. 1977.** *Leishmania* in phlebotomid sandflies. IV. The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia longipalpis*. *Proceedings of the Royal Society B* 196: 105-115.
- Lewis, D. J. and Minter, D. M. 1960.** Internal structural changes in some African Phlebotominae. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 54: 351-365.
- Lom, J. 1979.** Biology of the trypanosomes and trypanoplasms of fish. Academic Press, London. p. 269-337.
- Minter-Goedbloed, E., Leake, C. J., Minter, D. M., McNamara, J., Kimber, C. and Bastien, P. 1993.** *Trypanosoma varani* and *T. grayi*-like trypanosomes: development in vitro and in insect hosts. *Parasitology Research* 79: 329-333.
- Molyneux, D. H., Jefferies, D. 1986.** Feeding behaviour of pathogen infected vectors. *Parasitology* 92: 721-736.
- Rogers, W. O., Burnheim, P. F., Wirth, D. F. 1988.** Detection of *Leishmania* within sand flies by kinetoplast DNA hybridization. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 39: 434-439.
- Schlein, Y. 1993.** *Leishmania* and sandflies-interactions in the life cycle and transmission. *Parasitology Today* 9: 255-258.

- Schlein, Y., Jacobson, R. L., Messer, G. 1992.** *Leishmania* infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and implement parasite transmission by bite. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 9944-9948.
- Schlein, Y., Jacobson, R. L., Shlomai, J. 1991.** Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proceedings of the Royal Society B* 245: 121-126.
- Shakarian, A. M., Dwyer, D. M. 2000.** Pathogenic *Leishmania* secrete antigenically related chitinases which are encoded by a highly conserved gene locus. *Experimental Parasitology* 94: 238-242.
- Shaw, J. J. 1964.** A possible vector of *Endotrypanum schaudinni* of the sloth *Choloepus hoffmanni*, in Panama. *Nature* 201: 417-418.
- Shaw, J. J. 1992.** *Endotrypanum*, a unique intraerythrocytic flagellate of New World tree sloths. An evolutionary link or an evolutionary backwater? *Ciênc Cult* 44: 107-116.
- Sherlock, I. A. and Pessôa, S. B. 1966.** *Leptomonas* infectando naturalmente *Phlebotomus* em Salvador (Bahia, Brasil). *Revista Latino Americana de Microbiología* 8: 47-50.
- Shortt, H. E. and Swaminath, C. S. 1931.** Life-history and morphology of *Trypanosoma phlebotomi* (Mackie, 1914). *Indian Journal of Medical Research* 19: 541-563.
- Taylor, A. W. 1929.** Note on the occurrence of *Crithidia* in *Phlebotomus minutus* var. *africanus* in Northern Nigeria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 23: 33-35.
- Telford, S. R. 1995.** The kinetoplastid hemoflagellates of reptiles. In: Kreier, J. P. (ed.), *Parasitic Protozoa*. 2nd ed. Academic Press, New York. 10. p. 161-223.
- Wilson, V. C. L. C., Southgate, B. A. 1979.** Lizard *Leishmania*. In: Lumsden, W. H. R., Evans, D. A. (Eds.), *Biology of the kinetoplastida*, vol. 2. Academic Press, London, pp. 241-268.

**Zeledón, R. and Rosabal, R. 1969.** *Trypanosoma leonidasdeanei* sp. nov. in insectivorous bats of Costa Rica. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 63: 221-228.